

**CARRIER FOR CULTURING T LYMPHOCYTE, PRODUCTION OF ACTIVATED T LYMPHOCYTE, KIT FOR PRODUCTION OF ACTIVATED T LYMPHOCYTE AND IMMUNE THERAPEUTIC AGENT****Patent number:** JP2000212200**Publication date:** 2000-08-02**Inventor:** YAMAGUCHI TOMOHIRO; BABA KENZO; KUROIWA YASUYUKI; SEKINE TERUAKI**Applicant:** HITACHI CHEM CO LTD.; SEKINE TERUAKI**Classification:****- International:** C07K17/08; A61P37/02; A61K35/14; C07K16/28; C12N5/06; C12N5/02**- european:****Application number:** JP 19990016957 19990126**Priority number(s):****Also published as:** JP2000212200 (f**Abstract of JP2000212200**

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To obtain a carrier for culturing T lymphocyte, capable of providing an activated T lymphocyte hardly having risk due to contamination, etc., of various germs, etc., and exceller in storage stability to long-term storage and reliability of quality and performance, provide a method for producing activated T lymphocyte hardly having scattering of culturing efficiency of T lymphocyte and activation efficiency of culturing lymphocyte, etc., using the same carrier and obtain a kit for producing th activated T lymphocyte and an immune therapeutic agent suitable for adoptive immunotherapy of cancer infectious disease, etc.

**SOLUTION:** This carrier for culturing T lymphocyte comprises an insoluble carrier in which anti-CD3 antibody is fixed, whose surface is dried. This method for producing an activated T lymphocyte comprise culturing T lymphocyte by using the carrier for culturing T lymphocyte and liquid culture medium for culture. This kit for producing activated T lymphocyte comprises the carrier for culturing T lymphocyte an a culture medium for culture. This immune therapeutic agent comprises an activated T lymphocyte obtained by a method for producing the activated T lymphocyte.

---

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2000-212200

(P2000-212200A)

(43)公開日 平成12年8月2日(2000.8.2)

(51)Int. Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テーマコード(参考)
C 0 7 K	17/08	C 0 7 K	17/08 4B065
A 6 1 P	37/02	A 6 1 K	31/00 6 3 7 A 4C087
A 6 1 K	35/14		35/14 Z 4H045
C 0 7 K	16/28	C 0 7 K	16/28
C 1 2 N	5/06	C 1 2 N	5/02
審査請求	未請求	請求項の数 7	O L (全 6 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願平11-16957

(22)出願日 平成11年1月26日(1999.1.26)

(71)出願人 000004455

日立化成工業株式会社

東京都新宿区西新宿2丁目1番1号

(71)出願人 595085561

関根 暉彬

東京都江東区塩浜1-1-13-420

(72)発明者 山口 智宏

茨城県日立市東町四丁目13番1号 日立化

成工業株式会社医薬品研究所内

(74)代理人 100071559

弁理士 若林 邦彦

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 Tリンパ球培養用担体、活性化Tリンパ球の製造方法、活性化Tリンパ球製造用キット及び免疫治療剤

(57)【要約】 (修正有)

【課題】 簡便な操作で雑菌等のコンタミネーション等による危険性が少なく長期保存に対する保存安定性、品質性能の信頼性に優れる活性化Tリンパ球が得られるTリンパ球培養用担体、これを用いるTリンパ球の培養効率及びその培養リンパ球の活性化効率などのバラツキが少ない活性化Tリンパ球の製造方法、活性化Tリンパ球製造用キット並びに癌、感染症等の養子免疫療法に好適な免疫治療剤の提供。

【解決手段】 抗CD3抗体を固定化した不溶性担体であって、その表面が乾燥されたものからなるTリンパ球培養用担体、このTリンパ球培養用担体及び培養用液体培地を用いてTリンパ球を培養し活性化Tリンパ球を得ることを特徴とする活性化Tリンパ球の製造方法、前記Tリンパ球培養用担体及び培養用培地からなる活性化Tリンパ球製造用キット並びに前記活性化Tリンパ球の製造方法によって得られる活性化Tリンパ球を含有してなる免疫治療剤。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 抗CD3抗体を固定化した不溶性担体であって、その表面が乾燥されたものからなるTリンパ球培養用担体。

【請求項2】 請求項1記載のTリンパ球培養用担体及び培養用液体培地を用いてTリンパ球を培養し活性化Tリンパ球を得ることを特徴とする活性化Tリンパ球の製造方法。

【請求項3】 インターロイキン-2の存在下にTリンパ球を培養することを特徴とする請求項2記載の活性化Tリンパ球の製造方法。

【請求項4】 請求項1記載のTリンパ球培養用担体及び培養用培地からなる活性化Tリンパ球製造用キット。

【請求項5】 培養用培地がインターロイキン-2を含有することを特徴とする請求項4記載の活性化Tリンパ球製造用キット。

【請求項6】 請求項1記載のTリンパ球培養用担体、培養用培地及びインターロイキン-2を含有する培養補助剤からなる活性化Tリンパ球製造用キット。

【請求項7】 請求項2又は3記載の活性化Tリンパ球の製造方法によって得られる活性化Tリンパ球を含有してなる免疫治療剤。

## 【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、Tリンパ球培養用担体、活性化Tリンパ球の製造方法、Tリンパ球製造用キット及び免疫治療剤に関する。

【0002】

【従来の技術】近年、免疫学の進歩により、免疫学的監視機構の低下によって発生する種々の免疫学的不全症に対して、さまざまな免疫治療法が試みられている。免疫学的監視機構の低下によって発生する疾患としては、癌（悪性腫瘍）、先天性免疫不全症、後天的免疫不全症等が挙げられる。免疫療法の目的の一つは、免疫学的監視機構を回復または亢進させることにより、これらの疾患を治療することである。

【0003】例えば、癌の免疫療法としては、免疫担当細胞（例えばキラーTリンパ球、NK細胞等）による腫瘍細胞への認識能力を高めて、腫瘍細胞を破壊し、排除させる方法が挙げられる。先天性免疫不全症や後天的免疫不全症の場合の免疫療法としては、欠如または低下した免疫学的監視機構を補助または亢進することにより、重篤な感染症を排除したり、あるいは、根本的に免疫不全状態を回復させる方法が挙げられる。免疫療法の代表的なものとして、例えば、患者の血液を採取し、リンパ球を分離し培養用培地中で培養し、IL-2を作用させることにより、リンフォカイン活性化キラー（以下、LAKと略す）細胞を誘導し、培養し、得られたLAK細胞を再び患者の体内に戻す養子免疫療法（活性化リンパ球療法）が開発されている。

【0004】活性化Tリンパ球の誘導には、不溶性担体の表面に抗CD3抗体を固定化されたTリンパ球培養用担体を用いて培養する方法が提案されている（特開平3-80076号公報）。このTリンパ球培養用担体としては、各実験者が培養前に、用時に、不溶性担体に抗CD3抗体を添加することにより、抗CD3抗体を固定化したTリンパ球培養用担体を調製し使用するか又はこの調製したTリンパ球培養用担体を不溶性の担体に抗CD3抗体を添加した溶液状態のまま、低温で静置して保存したものを使用しているのが現状である。

【0005】しかしながら、実験者にとって、上記Tリンパ球培養器の調製は、熟達と多くの煩雑な操作を要するものである。また、抗CD3抗体溶液を添加したまま調製されたTリンパ球培養用担体は、それをそのまま培養に使用すると、固定化されていないフリーの抗CD3抗体の存在によりTリンパ球の増殖性が抑制される。そのため、使用時、培養時に、上記Tリンパ球培養用担体は、固定化されていないフリーの抗CD3抗体溶液を除去したり、さらに、リン酸緩衝食塩水溶液（PBS）等適当な洗浄液を使用し洗浄したりする処理が必要となる。しかし、この抗CD3抗体溶液の除去及び洗浄処理において、細心の注意で行っても、Tリンパ球培養用担体としての培養フラスコ等の開口部又は蓋に付着した液滴を介した雑菌のコンタミネーション等による危険性がある。

【0006】さらに、調製後の抗CD3抗体を固定化されたTリンパ球培養用担体は、その固定化された抗CD3抗体のTリンパ球活性化能が、保存温度、保存時間とともに低下するため、Tリンパ球の培養効率及び活性化効率のバラツキなどTリンパ球培養用担体の保存安定性上、品質性能の信頼性上の問題もある。そのため、臨床において、保存安定性、品質性能の信頼性に優れ、しかも、簡便な操作で雑菌等のコンタミネーション等による危険性の少ないTリンパ球培養用担体及びTリンパ球製造用キットが望まれている。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】請求項1記載の発明は、簡便な操作で、雑菌等のコンタミネーション等による危険性が少なく、しかも、長期保存に対する保存安定性、品質性能の信頼性に優れる活性化Tリンパ球が得られるTリンパ球培養用担体を提供するものである。請求項2記載の発明は、簡便な操作で、雑菌等のコンタミネーション等による危険性が少なく、Tリンパ球の培養効率及びその培養リンパ球の活性化効率などのバラツキが少ない活性化Tリンパ球が得られる製造方法を提供するものである。請求項3記載の発明は、請求項2記載の発明に加えて、特に、Tリンパ球の培養効率及びその培養リンパ球の活性化効率に優れる活性化Tリンパ球の製造方法を提供するものである。

【0008】請求項4～6のいずれかに記載の発明は、

簡便な操作で、雑菌等のコンタミネーション等による危険性が少なく、Tリンパ球の培養効率及びその培養リンパ球の活性化効率などのバラツキが少ない活性化Tリンパ球が得られる活性化Tリンパ球製造用キットを提供するものである。請求項7記載の発明は、癌、感染症等の養子免疫療法に好適な免疫治療剤を提供するものである。

#### 【0009】

【課題を解決するための手段】本発明は、下記(1)～(8)に関する。

(1) 抗CD3抗体を固定化した不溶性担体であって、その表面が乾燥されたものからなるTリンパ球培養用担体。

(2) 上記(1)記載のTリンパ球培養用担体及び培養用液体培地を用いてTリンパ球を培養し活性化Tリンパ球を得ることを特徴とする活性化Tリンパ球の製造方法。

(3) インターロイキン-2の存在下にTリンパ球を培養することを特徴とする上記(2)記載の活性化Tリンパ球の製造方法。

(4) 上記(1)記載のTリンパ球培養用担体及び培養用培地からなる活性化Tリンパ球製造用キット。

【0010】(5) 培養用培地がインターロイキン-2を含有することを特徴とする上記(4)記載の活性化Tリンパ球製造用キット。

(6) 上記(1)記載のTリンパ球培養用担体、培養用培地及びインターロイキン-2を含有する培養補助剤からなる活性化Tリンパ球製造用キット。

(7) 上記(2)又は(3)記載の活性化Tリンパ球の製造方法によって得られる活性化Tリンパ球を含有してなる免疫治療剤。

#### 【0011】

【発明の実施の形態】本発明において、不溶性担体としては、リンパ球培養に使用できるものであれば、特に制限されないが、繊維状、プレート状、ビーズ状及びフラスコ状の形状が挙げられる。培養効率の観点から、少スケールの培養においては、フラスコ状の形状が好ましく、大量スケールの培養においては、ビーズ状の形状が好ましい。

【0012】本発明において、不溶性担体の材質としては、水に不溶性であって、抗CD3抗体を固定化できる材質であれば、特に制限されないが、例えば、シリカ、ガラス等の活性炭等の無機物質、ポリエチレン、ポリプロピレン等のポリオレフィン、ポリスチレン、ポリ塩化ビニル等の合成高分子プラスチック、不溶性アガロース、セルロース、不溶性デキストラン等天然高分子物質などが挙げられる。これらの中では、成形の容易性、エチレンオキサイドガス又はガンマ線滅菌の容易性及び抗CD3抗体の固定化効率などの観点から、ポリオレフィン系のプラスチックが好ましい。市販のプラスチック製

滅菌済み細胞培養フラスコや細胞培養用ビーズ等を使用することもでき、その使用するフラスコの大きさやビーズ数は、培養のスケールや培養開始時に添加する細胞浮遊液の量等により適宜選択できる。例えば、市販のプラスチック製滅菌済み細胞培養フラスコの大きさとしては、底面積が25cm<sup>2</sup>、75cm<sup>2</sup>、又は225cm<sup>2</sup>等のフラスコが挙げられる。

【0013】本発明において不溶性担体への固定化に使用する抗CD3抗体としては、リンパ球細胞の増殖・活性化を促進できる抗体であれば、特に、限定されない。CD3分子はTリンパ球の細胞表面に存在し、T細胞受容体(TCR)と共に標的抗原を認識する際に重要な分子である。CD3分子を介して刺激情報が細胞内に伝達されることにより、Tリンパ球は増殖を開始する。同様な現象が、CD3分子に対する特異的抗体(抗CD3抗体)の刺激により起こる。リンパ球細胞の刺激に用いる抗CD3抗体は、精製したCD3分子を動物又は細胞に免疫して産生させることができる。また、安定性、コスト、品質等に優れた市販のOKT-3抗体(製造元:オーソファーマスーティカル)も使用できる。

【0014】上記、不溶性担体の表面への抗CD3抗体の固定化に際し、抗CD3抗体は、滅菌したリン酸緩衝食塩水溶液(PBS)等の希釈液により、1~50μg/mlの濃度に希釈し使用することが好ましい。1μg/ml未満の濃度では、Tリンパ球の増殖が不十分な傾向となり、50μg/mlを超える濃度でも、Tリンパ球の増殖は、十分であるが、不溶性担体に固定化しないフリーの抗CD3抗体が多くなる傾向となる。なお、希釈液としては、滅菌されているリン酸緩衝食塩水溶液(PBS)等の生理的な溶液であれば特に制限されるものではないが、保護剤としてアルブミンやCMCセファロースなどを加えることもできる。

【0015】不溶性担体がフラスコ状又はプレート状の場合、抗CD3抗体の固定化は、フラスコ又はプレートの底面部に、希釈された抗CD3抗体溶液を無菌的に添加し、一定時間一定温度で静置することにより行う。また、不溶性担体が繊維状又はビーズ状の場合、抗CD3抗体の固定化は、別容器に希釈された抗CD3抗体溶液をとり、この溶液中に、無菌的に、これら不溶性担体を浸漬する。固定化の際の反応温度は、4~40℃であることが好ましく、4~25℃であることがより好ましく、4~10℃であることがさらに好ましい。4℃未満であると抗CD3抗体の固定化の効率が低下する傾向となり、40℃を超えると抗CD3抗体の活性が低下する傾向となる。固定化の際の反応時間は、30分から24時間であることが好ましく、1時間から24時間であることがより好ましい。30分未満であると抗CD3抗体の固定化量が低下する傾向となり、24時間を超えると固定化時間が長すぎて、生産効率が低下する傾向となる。

【0016】上記抗CD3抗体の固定化に続き、固定化されなかった残余の抗CD3抗体希釈液を除去し、リン酸緩衝食塩水溶液(PBS)等適当な洗浄液を使用することにより固定化されなかった抗CD3抗体を洗浄し、乾燥させる。乾燥法としては、洗浄液を除いた後、4~10℃での冷蔵庫中での自然乾燥、10~40℃での加温された条件下での乾燥、凍結乾燥等周知の方法が利用できる。抗CD3抗体の活性及びその安定性の観点から、凍結乾燥が好ましく、4~10℃での冷蔵庫中での自然乾燥がより好ましい。以上のようにして、不溶性担体表面に抗CD3抗体を固定化され、該抗CD3抗体の固定化表面が乾燥されてなるTリンパ球培養用担体を得られる。

【0017】本発明において、Tリンパ球製造用キットは、上記Tリンパ球培養用担体、培養用培地を必須の構成とし、必要に応じ培養補助剤を組合せることができる。培養用培地としては、RPMI-1640、ダルベッコ改変イーグル培地(DMEM)、イスコフ改変イーグル培地(IMDM)等の一般に広く用いられる細胞培養用培地が挙げられる。

【0018】培養補助剤としては、細胞培養の効率向上のため、リンパ球の増殖を促進させる成分、例えば、インターロイキン-2(IL-2)等のサイトカインなど、周知の成分が挙げられる。なお、インターロイキン-2(IL-2)等のサイトカインは、培養補助剤とせずに培養用培地中に含有させることもできる。IL-2の量としては、培養開始時のリンパ球約 $1 \times 10^6$ 個/ml当たり1~2000Uを含有させることが好ましい。1U未満では、リンパ球の培養の効率向上が期待できない傾向となり、2000Uを超えた濃度でも、リンパ球に悪影響を与えることはないが一定以上の培養効率向上は期待できない傾向となる。

【0019】培養用培地及び培養補助剤は、溶液状態あるいは凍結乾燥状態のいずれの剤形としても良いが、溶液状態の剤形とした場合、あるいは凍結乾燥状態の剤形のもの一度溶解した場合は、活性の低下を防ぐため、冷蔵保存(4~10℃)とすることが望ましい。以下、本発明のリンパ球のTリンパ球培養用担体又はTリンパ球製造用キットを用いた活性化Tリンパ球の製造方法について説明する。

【0020】培養すべきリンパ球としては、末梢血リンパ球の他、上皮性リンパ球、腫瘍内浸潤リンパ球、癌性腹水胸水浸潤リンパ球など生体に存在するあらゆるリンパ球が挙げられ、特に制限されないが、採血直後の新鮮末梢血に含まれるリンパ球であることが、採血患者への身体的負担、リンパ球分離の簡便さ、分離後リンパ球の生存率の良さ、という点で好ましい。活性化Tリンパ球の製造において、採血の量、培養開始時のリンパ球の数は、特に、制限されないが、患者への負担、リンパ球分離などの処理のし易さ等の観点から、約5~50mlの

少量の新鮮末梢血を採取し、そこから分離したリンパ球約 $1 \sim 100 \times 10^6$ 個から開始することが好ましい。

【0021】分離した新鮮リンパ球は、適当量のIL-2と体積比10(V/V)%の正常ヒト血清を含む新鮮な培養用培地に浮遊させ、抗CD3抗体を1~50 $\mu$ g/mlの濃度で結合させたTリンパ球培養用担体と接触させる。接触させる細胞浮遊液の量は、培養のスケール等により制限されないが、一般に、細胞濃度として、約 $1 \sim 10 \times 10^6$ 個/mlが好ましい。ここで使用する正常ヒト血清の濃度は、1~20(V/V)%の範囲で十分であるが、リンパ球の増殖促進には一般的に2~10(V/V)%が好ましい。ここで使用する培養用培地は、一般に滅菌したRPMI-1640培地を使用できるが、リンパ球の培養に適していればこの限りではない。培養は、一般的な細胞培養と同様に、5%CO<sub>2</sub>、37℃のCO<sub>2</sub>インキュベーター内で行うのが好ましい。

【0022】Tリンパ球培養用担体を用いての培養日数は、特に制限されないが、少なくとも3~7日程度であり、これ以上の日数になっても、細胞の活性化になら問題はない。培養の期間内は、顕微鏡下で細胞の状態を観察し、適宜細胞数を計測しながら、1~50mlの同じ培養液を添加する。この時、培養開始1~2日目は目立った細胞の増殖はなく、3日目頃から細胞増殖が観察される。培養液の劣化及びIL-2活性の低下を常に考え、適量の新鮮培養液を毎日添加することが重要である。

【0023】本発明のTリンパ球培養用担体及び活性化Tリンパ球製造用キットを用いることにより、CD3+CD4+T細胞、CD3+CD8+T細胞、ガンマー・デルタT細胞、希に少数のCD16+NK細胞が増殖できる。つまり、少量のリンパ球から標的細胞を障害する活性を有するTリンパ球集団が効率的かつ大量に誘導できる。通常、500~10、000倍の細胞が誘導できる。

【0024】本発明のTリンパ球培養用担体及び活性化Tリンパ球製造用キットを用いる製造方法によって得られた活性化Tリンパ球を癌、自己免疫疾患、細菌ウィルス感染、アレルギー、先天性及び後天性免疫不全症などの患者に対する養子免疫療法に使用する場合、免疫治療剤としての活性化Tリンパ球の投与量は、1回当りの細胞の量で $10^6 \sim 10^{12}$ 個の細胞が望ましい。投与形態としては、注射剤、点滴剤などの液体が好ましく、前記細胞をヒト血清アルブミンを0.01~5%となるように添加した生理食塩液に分散した注射剤又は点滴剤がより好ましい。投与方法としては、静脈への点滴、又は静脈、動脈、局所などへの注射が好ましい。投与する液量は、投与方法、投与する場所などにより異なるが、50~500mlとするのが好ましく、この液量に前記の量の細胞が含まれるようにするのが好ましい。投与頻度は、1回/日~1回/月とするのが好ましく、投与回数は、

少なくとも1回、好ましくは5回以上である。

#### 【0025】

【実施例】(1) Tリンパ球培養用担体の調製  
抗CD3抗体(OKT3、オルソ ファーマシューティカル コーポレーション製)をリン酸緩衝食塩水溶液(PBS)で1 $\mu$ g/mlの濃度に希釈し、表面積25cm<sup>2</sup>のフラスコ(住友ベークライト)に5ml注入した。この溶液をフラスコの底面にまんべんなく広げ、冷蔵庫(4℃)で一晩静置し、その後OKT3希釈液を吸引除去し、PBSで3回洗浄し、クリーンベンチ内で室温にて風乾させTリンパ球培養用担体を調整した。比較のために、PBSで洗浄した直後のTリンパ球培養用担体(湿潤)も作成した。更に、作成した2種類のTリンパ球培養用担体を、41℃の恒温槽内に静置した。

#### 【0026】(2) 培養用培地の調製

IL-2を1000U/ml含有したRPMI-1640+9培地(日研生物医学研究所製)を基本培地であるRPMI-1640+7培地(日研生物医学研究所製)でIL-2濃度が700U/mlに希釈し、さらに体積比10%ヒト血清(新鮮凍結血漿を37℃で解凍後、56℃、30分間加熱して非働化し、18000rpm、60分、4℃の遠心により沈殿物を除去し、さらに0.45 $\mu$ mのフィルターで濾過したもの)を含むように培養用培地を調製した。(3) Tリンパ球製造用キット上記(1)のTリンパ球培養用担体及び(2)培養用培地を組合せTリンパ球製造用キットとした。

#### 【0027】(4) リンパ球の培養

ヘパリン処理をした20mlの注射器を用いて採血したヒト末梢血全血20mlに生理食塩液20mlを加え2倍に希釈し、密度勾配遠心分離の媒体であるFicoll-Paque(ファルマシア社製)3mlに希釈血液10mlを重ねて1600rpm、25分、20℃の条件で遠心を行い、リンパ球層を回収した。分離したリンパ球はRPMI-1640培地で3回洗浄し、前記のIL-2を含む培養液中に細胞密度約2 $\times$ 10<sup>6</sup>個/mlで懸濁させ、この細胞懸濁液5ml(1 $\times$ 10<sup>7</sup>個)を前記2種類のTリンパ球培養用担体である抗CD3抗体固定化培養フラスコ中に加えて培養を開始した。翌日(培養1日目)からIL-2を

含む培養用培地を1ml添加し、この操作を培養7日目まで繰り返した。

【0028】本発明の抗CD3抗体(OKT3)の結合面を乾燥させたTリンパ球培養用担体(乾燥)及び従来の乾燥させていないTリンパ球培養用担体(湿潤)を、41℃の恒温槽内に1週間静置させ、その後、IL-2を含む培養用培地に浮遊させ、そのリンパ球を7日間培養した時の増殖曲線を図1に示す。図1において、リンパ球増殖率は、培養開始時のリンパ球数に対する比率を表す。リンパ球増殖率、即ち、活性化リンパ球を増殖させる培養効率、活性化効率は、本発明の乾燥させたTリンパ球培養用担体を使用した場合に、明らかに良好であった。

#### 【0029】

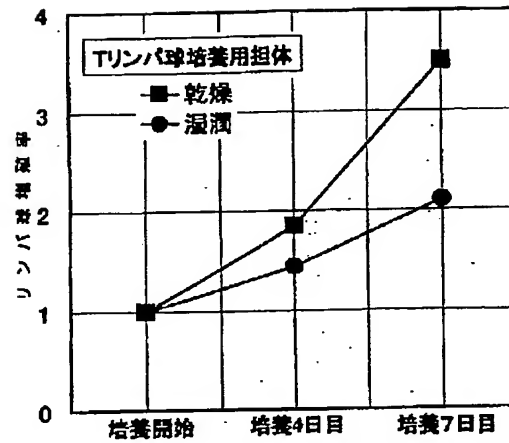
【発明の効果】請求項1記載のTリンパ球培養用担体は、簡便な操作で、雑菌等のコンタミネーション等による危険性が少なく、しかも、長期保存に対する保存安定性、品質性能の信頼性に優れた活性化Tリンパ球が得られる。請求項2記載の活性化Tリンパ球の製造方法は、簡便な操作で、雑菌等のコンタミネーション等による危険性が少なく、Tリンパ球の培養効率及びその培養リンパ球の活性化効率などのバラツキが少ない活性化Tリンパ球が得られる。請求項3記載の活性化Tリンパ球の製造方法は、請求項2記載の活性化Tリンパ球の製造方法に加えて、特に、Tリンパ球の培養効率及びその培養リンパ球の活性化効率に優れる。

【0030】請求項4～6のいずれかに記載の活性化Tリンパ球製造用キットは、簡便な操作で、雑菌等のコンタミネーション等による危険性が少なく、Tリンパ球の培養効率及びその培養リンパ球の活性化効率などのバラツキが少ない活性化Tリンパ球が得られる。請求項7記載の免疫治療剤は、癌、感染症等の養子免疫療法に好適である。

#### 【図面の簡単な説明】

【図1】本発明のTリンパ球培養用担体及び従来のTリンパ球培養用担体を用い7日間培養した時のリンパ球の増殖曲線の比較を示す。

【図1】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.<sup>7</sup>  
C12N 5/02

識別記号

F I  
C12N 5/00

テ-マ-ト\* (参考)

E

(72)発明者 馬場 憲三  
茨城県日立市東町四丁目13番1号 日立化  
成工業株式会社医薬品研究所内  
(72)発明者 黒岩 保幸  
茨城県日立市東町四丁目13番1号 日立化  
成工業株式会社医薬品研究所内

(72)発明者 関根 暉彬  
東京都江東区塩浜1-1-13-420

Fターム(参考) 4B065 AA94X BB19 BC45 CA44

CA60

4C087 AA01 AA02 AA03 AA10 BB37

CA04 MA01 ZB01 ZB09 ZB26

ZB35

4H045 BA62 DA50 DA75